Capítulo 20
Hipersensibilidad tipo IV

ROGELIO HERNÁNDEZ PANDO • ESTELA ISABEL BINI BONOMINI

INTRODUCCIÓN

Contenido del capítulo

La hipersensibilidad tardía o, de acuerdo con la clasificación de Coombs y Gell, hipersensibilidad tipo IV se caracteriza por la producción de daño tisular mediada sobre todo por linfocitos T y macrófagos. Por ello también se le denomina hipersensibilidad mediada por células o DTH (por sus siglas en inglés *Delayed Type Hipersensitivity*). La DTH fue descubierta en 1882 por Robert Koch, quien descubrió el agente causal de la tuberculosis, y en su más estricto sentido inmunopatológico corresponde al llamado fenómeno de Koch.

Koch demostró que después de cuatro a seis semanas de haber infectado cobayos con *M. tuberculosis*, la administración intradérmica de micobacterias o el filtrado de cultivo de las mismas producía necrosis, tanto en el sitio de la infección inicial, que era el pulmón, como en forma local en la región cutánea del sitio de la inmunización. Una reacción similar se observa en los pacientes con tuberculosis activa, en quienes la administración subcutánea del derivado proteico purificado de *M. tuberculosis* o prueba de Mantoux, o de la tuberculina, puede producir necrosis. Koch trató de explotar de modo terapéutico este fenómeno, y observó que la inyección subcutánea de grandes cantidades del filtrado de cultivo de *M. tuberculosis* (tuberculina antigua) en pacientes con tuberculosis producía necrosis extensa en las lesiones pulmonares u óseas que podían producir la muerte, por lo que este tipo de tratamiento tuvo que ser abandonado. Más tarde, el concepto de DTH se extendió a la reacción cutánea producida por otros antígenos bacterianos, parasitarios y hongos (*M. leprae*, Leshmania, *C. albicans*), solos o asociados con adyuvantes, lo mismo que a la producida por haptenos y la respuesta a aloinjertos.

A continuación se describen los conceptos fundamentales (clínicos e inmunopatológicos) de la respuesta de hipersensibilidad tardía inducida por la tuberculina, la manifestación inmunohistológica de esta respuesta en la inflamación granulomatosa, el daño tisular mediado por la respuesta de inmunidad celular exacerbada, como sucede en el fenómeno de Koch, y la respuesta de hipersensibilidad tardía cutánea inducida por otros antígenos, por ejemplo medicamentos o metales, en la dermatitis atópica.

Reacción a la tuberculina

En algunas enfermedades infecciosas, en particular la tuberculosis, la prueba de hipersensibilidad tardía cutánea se utiliza para evaluar la exposición a antígenos. Consiste en la administración intradérmica de una pequeña cantidad de antígenos; en caso de que ésta sea positiva produce un nódulo indurado.

Histológicamente, en la lesión que corresponde al nódulo indurado se observa edema e infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos y macrófagos, que por lo general tiene su máxima actividad de 48 a 72 horas después de la administración del antígeno. Por este motivo se le llama hipersensibilidad tardía. Se ha demostrado que esta reacción depende por completo de la presencia de linfocitos T de memoria; se considera que los linfocitos Th1 son las células inductoras, debido a que producen IFN-γ, que es una potente citocina inductora de la activación de macrófagos. Se cree que los linfocitos Th2 no participan en la hipersensibilidad tardía, o bien contribuyen a disminuir la respuesta, aunque se ha probado que estas células también pueden estar relacionadas con eventos proinflamatorios. La respuesta prototipo de la DTH es la inducida por antígenos de *M. tuberculosis*, también llamada reacción de tuberculina o prueba de Mantoux.

Por definición, los estados de hipersensibilidad son aquellas condiciones en las que una respuesta inmunológica produce daño tisular, como sucede en el fenómeno de Koch, pero en general se considera que aunque sólo exista inflamación, sin necrosis o daño tisular evidente, la reacción a la tuberculina revela un estado de hipersensibilidad a antígenos micobacterianos (incluso en ausencia de signos y síntomas evidentes de la enfermedad), por lo que se ha considerado una prueba de exposición previa a *M. tuberculosis*.

La prueba de tuberculina consiste en la administración intradérmica en la región anterior del antebrazo de 0.1 mL (10 U) de antígeno proteínico purificado (PPD), que corresponde a un conglomerado de moléculas proteínicas obtenido del filtrado de cultivo de *M. tuberculosis*. La reacción tisular clínica se inicia pocas horas después de la inyección del PPD con una área de induración color blanco o rosa, la cual llega a su máximo de 48 a 72 horas y se resuelve de 10 a 14 días. La lesión en su máximo nivel se caracteriza por la aparición de un nódulo indurado que en ocasiones se asocia a petequias y rara vez desarrolla vesiculación o ulceración con necrosis. Esto último se observa con mayor frecuencia en pacientes con tuberculosis activa y corresponde al fenómeno de Koch antes descrito. La respuesta cutánea se revisa midiendo la induración cutánea producida: si el sujeto no ha sido vacunado con BCG (bacilo de Calmette y Guérin) y desarrolla una lesión con un diámetro mayor de 10 mm se considera positiva, lo cual indica infección con *M. tuberculosis*, y si es menor a 5 mm es negativa. Si el diámetro es de 5 a 9 mm se considera indeterminada, quizá como consecuencia de la vacunación con BCG o la exposición a micobacterias saprófitas. En pacientes con HIV, se considera reacción positiva cualquier tamaño de induración en la prueba de PPD.

Es importante considerar que la respuesta positiva indica infección, pero no necesariamente enfermedad. La *M. tuberculosis* puede producir enfermedad activa o infección latente. Luego de confrontar por primera vez la bacteria (primoinfección), la mayoría de los sujetos (95%) no desarrolla la enfermedad, aunque el 30% mantiene la bacteria viva en los tejidos en un estado de equilibrio, en el cual el sistema inmunológico no elimina a las bacterias y éstas no destruyen las células infectadas del huésped. A esto se le llama infección latente y se caracteriza porque los sujetos infectados son clínicamente sanos y, por lo tanto, no transmiten la enfermedad. Sin embargo, en situaciones en las que se producen estados de inmunodeficiencia como en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, diabetes no controlada o envejecimiento, las bacterias en estado latente pueden reactivarse y producir enfermedad activa, lo que se denomina tuberculosis de reactivación.

Se estima que un tercio de la humanidad (2 mil millones de personas) tiene tuberculosis latente, y que cerca de 10% desarrollará tuberculosis de reactivación. Las personas con tuberculosis latente por lo general muestran pruebas de tuberculina positivas, pero debido a la infección latente es muy común en países endémicos en donde suele realizarse una vacunación masiva con BCG; es difícil discernir por cuál de las dos condiciones la reacción a la tuberculina es positiva. En la actualidad se utilizan los antígenos específicos de *M. tuberculosis* ESAT-6 y CFP-10, que son secretados durante la infección temprana y son muy inmunogénicos para estimular linfocitos T de sangre periférica. Si tales antígenos inducen la producción de IFN-γ es un indicador de que el sujeto tiene infección latente, pues los genes que los codifican no existen en *Mycobacterium bovis* BCG; por lo tanto, en los sujetos vacunados sin infección latente no existen linfocitos T de memoria que reconozcan los antígenos. Es importante considerar que las personas con inmunodeficiencia, como los pacientes con sida, por lo regular producen reacciones negativas a la tuberculina aunque tengan infección latente.

Debido a que las reacciones a la tuberculina se establecen a nivel cutáneo, ha sido relativamente fácil

obtener tejido y estudiar diversos aspectos de la respuesta de inmunidad celular. Desde el punto de vista histológico, se ha descrito que la respuesta inflamatoria en la DTH es bifásica; primero se presenta una respuesta inflamatoria inespecífica (que puede incluso producirse en sujetos no sensibilizados) seguida de una segunda fase específica a los antígenos para los cuales existen células T de memoria.

Al inicio de la respuesta inespecífica (4 a 6 horas), la mayoría de las células inflamatorias son neutrófilos. Unas 12 horas después empiezan a emigrar linfocitos T antígeno específico por los vasos sanguíneos, mientras que el número máximo de macrófagos activados infiltrantes se observa a las 24 horas. A las 48 horas la mayoría de las células inflamatorias son linfocitos T. Éstos se localizan sobre todo en las áreas perivasculares y en forma difusa en la dermis; los linfocitos Th $CD4^+$ suelen ser más abundantes que los Tc $CD8^+$. La secreción de citocinas proinflamatorias producida por estos linfocitos (como el IFN-γ, el TNF-α y la linfotoxina) induce la expresión de diversas moléculas de adherencia en las células endoteliales, lo que incrementa la permeabilidad vascular y la migración de leucocitos. Las células endoteliales muestran cambios importantes; por ejemplo, luego de 1 a 2 horas de la estimulación antigénica, estas células expresan E-selectina, y a las 12 horas moléculas de adherencia ICAM-1 y VCAM-1, las cuales interaccionan con LFA-1 y VLA-1 expresadas en la membrana de monocitos y linfocitos, lo que permite su migración a la dermis. Diversos estudios han mostrado que hay numerosos linfocitos Th $CD4^+$ y Tc $CD8^+$ de memoria en la piel normal; casi todos expresan $CCR8^+$, actúan como células centinela, y conviven y se relacionan con células dendríticas. Lo anterior permite la presentación y el reconocimiento de antígenos en un contexto adecuado de proteínas del MHC que induce un programa de activación y migración celular que involucra a monocitos, granulocitos, y linfocitos T y B. Los linfocitos T de memoria centinelas tienen en este aspecto una función dual, pues en primera instancia se activan de modo local a través de la presentación antigénica mediada por las células dendríticas de la dermis y las células de Langerhans de la unión dermoepidérmica. Los linfocitos T activados por medio de la secreción de IFN-γ y TNF-α inician el proceso inflamatorio que permite la migración y el reclutamiento de leucocitos. Después, los linfocitos T de memoria centinelas y las células dendríticas cargadas con antígenos también migran a los ganglios linfáticos regionales, en donde contribuyen a la activación y expansión de más linfocitos, los cuales migran y contribuyen a amplificar la inflamación y la respuesta inmunológica en la lesión cutánea.

Durante la fase en que se resuelve la inflamación, los linfocitos T específicos para el PPD pierden la expresión de CD45RB y acortan sus telómeros entre el día 7 y 21. Además, estas células también presentan apoptosis activa; sin embargo, incluso en el día 21 (cuando ya no hay signos clínicos de inflamación) se han encontrado linfocitos T específicos al PPD en la piel, lo que indica que hay persistencia de linfocitos T de memoria en tejidos no linfoides. Estos linfocitos son CD45 RA^-CCR7^-, lo que los caracteriza como linfocitos T de memoria efectores, tienen fenotipo variable y llegan a constituir hasta 80% de la población celular en la dermis normal. De este modo, parece que no es necesario reclutar en la piel más linfocitos T circulantes reactivos al PPD. Sin embargo, hay evidencias de que las células endoteliales de los vasos de la dermis también pueden presentar antígenos asociados con moléculas del MHC I y II, y con linfocitos Th $CD4^+$ y Tc $CD8^+$ de memoria circulantes e inducir su proliferación y activación, así como la producción de citocinas. Conviene mencionar que el mismo IFN-γ que induce migración de células inflamatorias promueve el acortamiento de los telómeros al inhibir la actividad de telomerasa en los linfocitos cutáneos. Esto no sucede en los linfocitos circulantes que reconocen en específico los antígenos del PPD; por lo tanto, los linfocitos de memoria que migran de la piel a la circulación se alejan del ambiente que les induce senescencia y muerte celular, con lo que mantienen su capacidad proliferativa. La presencia de *M. tuberculosis* en los tejidos induce una respuesta intensa de inmunidad celular, la cual con frecuencia se organiza en acúmulos de linfocitos y macrófagos que contienen las bacterias; tal respuesta tisular se conoce con el término granulomas. En el siguiente apartado se describirá dicho tipo especial de inflamación en términos de su inducción, formación, organización y significado biológico.

Inflamación granulomatosa

Se define a los granulomas como un tipo de inflamación crónica, caracterizado por la congregación de numerosos linfocitos y macrófagos que se organizan para formar nódulos de límites precisos que son inducidos por agentes irritantes, poco o no biodegradables. Los componentes no biodegradables (entre éstos material de sutura o cristales de uratos) inducen la formación de granulomas, son también llamados de cuerpo extraño o no inmunológicos, debido a que no inducen respuestas específicas de la inmunidad adaptativa. Por su parte, agentes infecciosos intracelulares,

como algunos hongos o bacterias inducen granulomas que están constituidos y son producidos por la activación de la inmunidad adaptativa celular, por lo que se denominan granulomas inmunológicos. Existen múltiples agentes que inducen la formación de granulomas inmunológicos, pero *Mycobacterium tuberculosis* es el prototipo de agente infeccioso granulomatogénico. De hecho, los granulomas presentes durante la tuberculosis la distinguen, y por ello también se les denomina tuberculomas.

Formación de granulomas

Cuando un paciente con tuberculosis tose, habla o expectora, expele pequeñas gotas de saliva en cuyo núcleo existen bacterias que son inhaladas por los convivientes cercanos; de esta forma las bacterias llegan por la vía aérea hasta los alveolos, donde los macrófagos las fagocitan y con ello se activan. Los macrófagos responden secretando quimiocinas, como CCL-2, 3, 4 y 5, CXCL9, CXCL10 y CXCL11, lo mismo que citocinas proinflamatorias (entre éstas IL-1β y TNF-α), las cuales inducen el reclutamiento secuencial de neutrófilos, monocitos, células NK, células dendríticas, linfocitos Th $CD4^+$ y Tc $CD8^+$ del torrente sanguíneo. Éstos, a su vez, producen sus propias quimiocinas y citocinas, lo que induce una respuesta mediada por células de modo similar a lo antes descrito para la hipersensibilidad tardía y que, al final, promueve y termina con la congregación de linfocitos y macrófagos organizados en una estructura nodular que corresponde al granuloma y que tiene como principal objetivo la contención y destrucción del agente agresor. Es importante considerar que los granulomas son estructuras dinámicas, cuya constitución celular y capacidades funcionales son cambiantes según el estadio y la condición de la enfermedad, y quizá también el órgano o sitio donde se están formando.

Morfológicamente, el granuloma está constituido en su parte central por un acúmulo de macrófagos infectados, muchos de los cuales son activados a consecuencia de su interacción con las citocinas que ellos mismos producen (como el TNF-α) o que producen los linfocitos T (p. ej., el IFN-γ). Los macrófagos activados son células grandes, de citoplasma abundante, aspecto compacto y núcleo periférico con frecuencia hendido y con la cromatina marginada a la periferia. Estas células son eficientes productoras de radicales libres de oxígeno y nitrógeno, los cuales destruyen los organismos invasores y producen las citocinas proinflamatorias y quimiocinas antes mencionadas. Los macrófagos activados se encuentran muy cerca entre sí, lo cual asemeja a las células epiteliales, motivo por el que también se les denomina macrófagos epitelioides. Alrededor de los mismos es común la presencia de macrófagos vacuolados, que se caracterizan por tener múltiples vacuolas citoplásmicas que contienen lípidos propios y de la bacteria; en modelos murinos estas células albergan numerosas bacterias y son una fuente importante de citocinas antiinflamatorias, como el TGF-β o la IL-10. Además, es usual la presencia de células gigantes multinucleadas, que son resultado de la congregación de varios macrófagos que al fusionar sus membranas originan células grandes con varios núcleos distribuidos en la periferia (tipo Langhans) o en el centro (tipo Touton). Se ha propuesto que éstas son células que al reunirse hacen más eficiente la eliminación del agente agresor y la producción de citocinas. En la parte periférica de los granulomas existe un manto de linfocitos, por lo general tipo Th1 $CD4^+$, que son fuente importante de citocinas como IFN-γ o IL-12; hay también linfocitos Tc $CD8^+$ y, en menor cantidad, linfocitos B. Una cápsula de tejido fibrótico compone la capa más externa del granuloma. Se considera que los granulomas así constituidos son eficientes en eliminar y contener al agente agresor.

En estadios avanzados de la enfermedad, también llamada tuberculosis progresiva, es común que el área central del granuloma pierda su riego sanguíneo y se necrose a consecuencia de un elevado crecimiento bacilar acompañado de una respuesta inmunológica específica, que se describirá más adelante en relación con el fenómeno de Koch. La necrosis central, asociada con gran cantidad de bacterias, adquiere un aspecto especial que recuerda el queso grumoso, por lo cual se le denomina necrosis caseosa. Este tipo de necrosis puede destruir las paredes de los bronquios cercanos; esto se asocia a un incremento en la actividad de metaloproteasas, sobre todo la tipo 9, lo que indica que éste es un proceso activo que se manifiesta en forma clínica con la expectoración de un esputo sanguinolento o no, y que contiene numerosas bacterias que lo hacen muy infeccioso. Esto convierte al paciente en un sujeto con alta capacidad de transmitir o contagiar la enfermedad (Figura 20-1).

Si el granuloma es capaz de contener y eliminar la bacteria, éste puede disminuir su tamaño e irrigación sanguínea para eventualmente fibrosarse y convertirse en un granuloma antiguo, cuyo ambiente hipóxico induce a las bacterias sobrevivientes a entrar en un estado de baja actividad metabólica (con una muy disminuida o nula actividad replicativa), lo que caracteriza a las bacterias en estado de latencia. El estado de latencia se mantiene por la actividad constante de

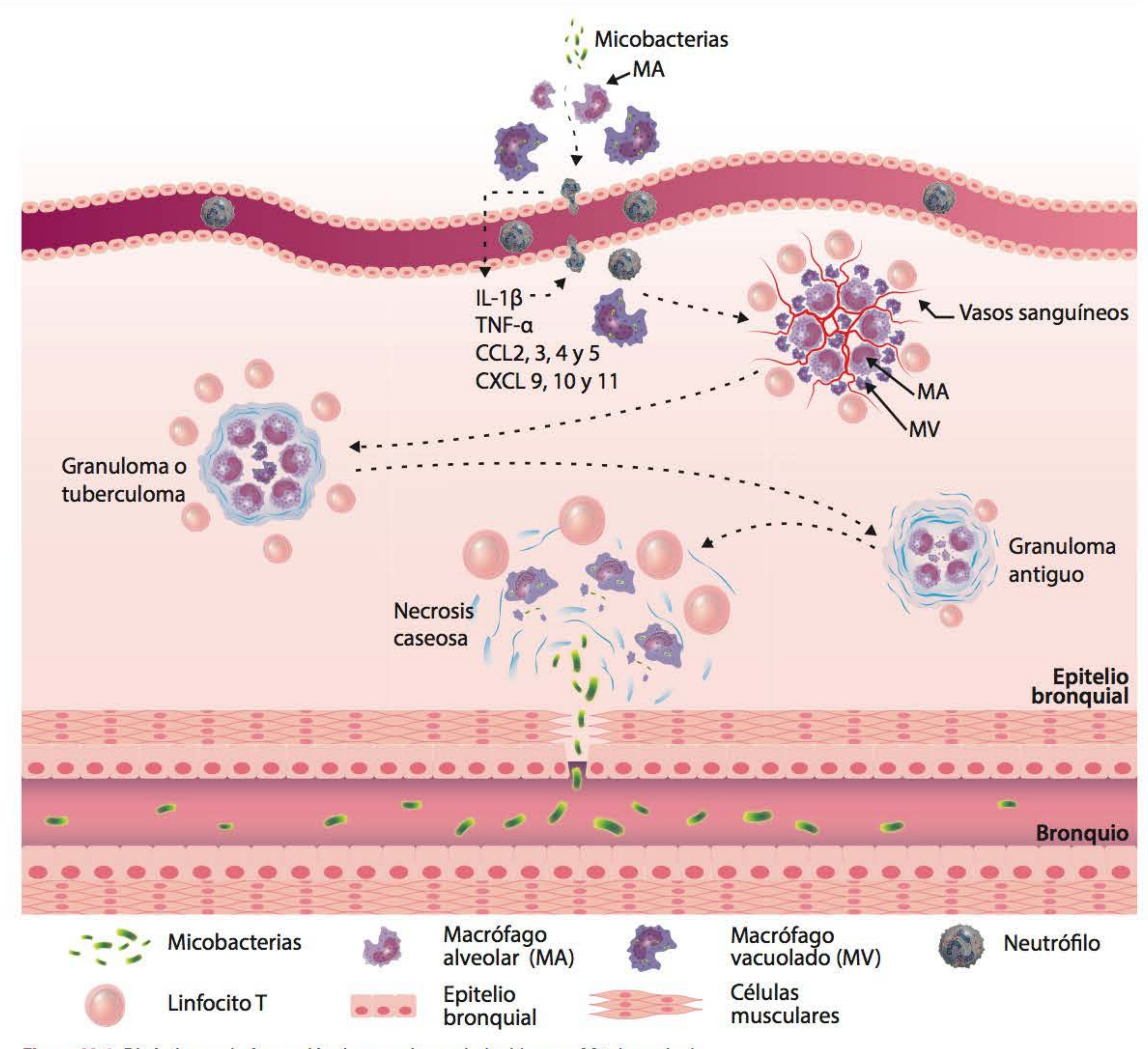


Figura 20-1. Dinámica en la formación de granulomas inducidos por M tuberculosis
Cuando las micobacterias ingresan por la vía aérea son fagocitadas por los macrófagos alveolares, lo cuales se activan e inducen una respuesta proinflamatoria local producida por el reclutamiento de leucocitos provenientes de los vasos sanguíneos cercanos. Los linfocitos y macrófagos, sobre todo, se organizan para formar una estructura nodular que corresponde al granuloma, cuyo principal objetivo es la contención y destrucción de las micobacterias. Una vez que la enfermedad progresa y aumenta el número de micobacterias, se produce necrosis de las áreas centrales del granuloma (necrosis caseosa); ésta se acompaña con destrucción del tejido vecino, en especial la pared de los bronquios. Lo anterior permite que se libere al lumen de los bronquios el contenido necrótico con abundantes micobacterias. Cuando ese material es expectorado, se liberan numerosas micobacterias viables al aire; así se transmite la enfermedad a los convivientes cercanos. Si las micobacterias se contienen y el granuloma envejece, la lesión se fibrosa y quedan pocos linfocitos y macrófagos que mantienen dentro del granuloma escasas micobacterias vivas, las cuales, debido al ambiente hipóxico que existe en éstos, son inducidas a mantenerse en estado latente y pueden reactivarse si se presenta un estado de inmunosupresión.

la respuesta inmunológica protectora, representada por los macrófagos activados y linfocitos Th1CD4+ que, por medio de sus citocinas como el TNF-α e IFN-γ, mantienen las bacterias en dicho estado quiescente. Cuando tal estado se rompe (resultado del debilitamiento del sistema inmunológico) las bacterias se reactivan para producir granulomas necrosantes y enfermedad activa. Esto se denomina tuberculosis de reactivación, es una situación que se presenta en el 10% de las personas con tuberculosis latente, es la forma más común de tuberculosis activa en los países no endémicos.

Los granulomas son inducidos por la persistencia del antígeno de las micobacterias, hongos o parásitos. En el caso de *M. tuberculosis* ésta sobrevive dentro de los macrófagos al evitar la maduración de los fagosomas, debido a que restringe la acidificación lisosomal. Al parecer, esta modulación del fagosoma es mediada por lípidos de la pared bacteriana. Los lípidos o glicolípidos de la pared de la micobacteria se acumulan en estructuras multilamelares dentro de los macrófagos, que en parte son liberadas en conjunto con algunas proteínas. Los lípidos liberados más importantes son manósidos de fosfatidilinositol,

monofosfatidil glicerol, difosfatidil glicerol, fosfatidil etanol amina, micolatos de trehalosa y glicolípido fenólico. En general, estos lípidos o glicolípidos tienen funciones reguladoras de la inflamación y del sistema inmunológico, y pueden asociarse con proteínas de la pared bacteriana, por ejemplo el antígeno 85B. Además, la micobacteria secreta antígenos muy inmunogénicos, entre éstos ESAT-6 (por sus siglas en inglés *Early Secreted Antigenic Target* 6) o CFP-10 (por sus siglas en inglés *Culture Filtrate Protein*), que son presentados a linfocitos Th1CD4$^+$ productores de IFN-γ. Como ya se expuso, son la base de las pruebas de hipersensibilidad tardía para diferenciar entre sujetos infectados y vacunados con BCG.

Los lípidos también son inmunogénicos al ser presentados por la familia CD1. Los glicolípidos de la pared celular tienen la capacidad de regular la actividad inflamatoria; por ejemplo, el dimicolato de trialosa es modificado por la incorporación de ciclopropanos, micobacterias mutantes cuyos dimicolatos de trehalosa carecen de ciclopropanos tienen gran capacidad de inducir inflamación porque incrementan la producción de TNF-α por macrófagos. Otro lípido, el glicolípido fenólico, está asociado con la virulencia de la micobacteria, pues inhibe la producción de IL-1, IL-12 y TNF-α; por ello, la respuesta de eliminación de la micobacteria se reduce de manera significativa, lo que le confiere mayor virulencia. Así, los componentes glicolipídicos de la pared bacteriana tienen una importante influencia en la producción de granulomas y en la modulación de la respuesta inmunológica.

El cinco por ciento de las personas que se infectan por primera vez con *M. tuberculosis* desarrollará tuberculosis progresiva. En estos pacientes con enfermedad activa por lo general la prueba de la tuberculina es muy positiva y, en ocasiones, no sólo los granulomas, sino también los nódulos cutáneos pueden mostrar necrosis y ulceración. Tal situación es una genuina respuesta de hipersensibilidad retardada, pues existe daño tisular y corresponde al fenómeno de Koch que se describirá en seguida.

Fenómeno de Koch

La tuberculosis es el prototipo de enfermedad infecciosa crónica en la que el factor patogénico más importante es el balance entre la protección inmunológica y el daño tisular. Ya se mencionó que el fenómeno de Koch es el primer antecedente histórico del daño tisular mediado por la respuesta inmunológica en la tuberculosis. El bacilo tuberculoso es intracelular facultativo y prolifera activamente, sobre todo en el citoplasma de macrófagos no activados. Cuando existe un número grande de micobacterias (en consecuencia de una activa reproducción en el citoplasma de macrófagos) se produce la respuesta necrotizante citotóxica asociada con la hipersensibilidad tardía. Los mecanismos inmunológicos básicos relacionados con este proceso no están bien definidos, pero diversas observaciones experimentales en modelos murinos señalan al TNF-α, la respuesta Th2 y la IL-17 como elementos importantes en el desarrollo de necrosis asociada con tuberculosis.

Las lesiones necróticas de la tuberculosis, en particular la necrosis caseosa, se asocia con la presencia de gran cantidad de micobacterias y, por lo tanto, con una elevada cantidad de antígenos bacterianos. Una alta concentración de antígenos por lo regular induce una eficiente activación de linfocitos Th2 productores de IL-4 e IL-13.

En pacientes con tuberculosis avanzada, en particular de países en vías de desarrollo, es común observar una alta producción de IL-4 e IL-13. El mismo tipo de respuesta se observa durante la enfermedad avanzada en ratones singénicos de la cepa BALB/c infectados por vía aérea con una dosis alta de micobacterias virulentas. En estos animales, cuando la enfermedad es avanzada, la prueba de tuberculina en el cojinete plantar inducida por la administración intradérmica del PPD induce una respuesta inflamatoria moderada; si en el mismo sitio se inyecta TNF-α recombinante, un día después se produce extensa necrosis hemorrágica que corresponde al fenómeno de Koch local. Cabe resaltar que esta respuesta necrótica inducida por el TNF-α no se presenta durante la fase temprana de la enfermedad, que es cuando sólo existe la respuesta protectora Th1. La evidencia sugiere que cuando existe una elevada cantidad de bacterias que induce la respuesta Th2 con alta producción de IL-4, el TNF-α induce necrosis. En cambio, cuando predomina la respuesta Th1, como sucede durante la etapa temprana de la enfermedad, el TNF-α no induce necrosis y es seguro que contribuye a producir protección al promover la activación de macrófagos y la eliminación de la bacteria. Esto fue confirmado en ratones a los que se les eliminaron los genes que codifican para IL-4 (ratones *knockout*), en los cuales, en el transcurso de la tuberculosis avanzada, la administración de PPD y TNF-α en el cojinete plantar no indujo necrosis. Hace poco se observó necrosis caseosa extensa en granulomas por infección con bacilos tuberculosos en animales que sobreproducen IL-13 por manipulación genética (transgénicos), lo cual confirma que la respuesta Th2 se asocia con la necrosis característica del fenómeno de Koch.

En las áreas de necrosis por tuberculosis, la presencia de neutrófilos es relativamente común; estas células

pueden contribuir a la necrosis por la liberación de sus enzimas hidrolíticas lisosomales. La presencia de neutrófilos en las áreas necróticas puede deberse en parte a la presencia de IL-17. La IL-17 y la IL-23 se producen en gran cantidad durante la infección por *M. tuberculosis,* lo que favorece la producción de la quimiocina MIP-2 que produce quimiotaxis eficiente de neutrófilos, que al degranularse producen necrosis.

Aunque a lo largo de la historia la investigación en tuberculosis fue crucial para el estudio de la hipersensibilidad tardía, se ha demostrado que otros antígenos de diversa naturaleza también son eficientes en producir hipersensibilidad tardía cutánea, lo cual se conoce con el término de dermatitis por contacto. En el siguiente apartado se describirán sus características y atributos inmunopatológicos más importantes.

Dermatitis por contacto

La dermatitis por contacto suele ser una enfermedad inducida por la exposición a agentes ambientales. Existen varios tipos de dermatitis por contacto según el tipo de agente inductor; por ejemplo, por irritantes, fototóxica, alérgica y fotoalérgica. La dermatitis por contacto (alérgica) es una respuesta de hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T. El daño principal ocurre sobre todo en la epidermis, lo que la diferencia de la reacción de tipo tuberculínico por PPD que ocurre en especial en la dermis, que es el sitio de aplicación del Ag.

La dermatitis por contacto se caracteriza clínicamente por prurito, eccema, eritema, vesículas y ampollas en su fase aguda, y por costras y piel liquenificada y gruesa durante su fase crónica. Puede ser causada por contacto con metales, cosméticos o plantas. Entre los metales, el níquel es la causa más común de dermatitis por contacto en las mujeres debido al uso de joyería. En los hombres es el dicromato de potasio, por la exposición al cemento. Los agentes causales en los cosméticos son los preservativos, perfumes, excipientes, emulsificadores y protectores solares. Los agentes relacionados con la ropa suelen ser formaldehído, colorantes y antioxidantes utilizados en la producción de hules sintéticos. Otros agentes son productos naturales, como las plantas, y en particular los relacionados con lactonas sesquiterpénicas pertenecientes a la familia *Compositae* y las proteínas de frutas, vegetales, especies o proteínas de animales. Algunos medicamentos que se ingieren también generan manifestaciones cutáneas (epidermis y dermis) por un mecanismo de hipersensibilidad tardía; sin embargo, las manifestaciones en la piel se deben a los mecanismos farmacocinéticos que el medicamento sufre durante la generación de sus metabolitos activos, y no a una verdadera exposición de *contacto al mismo.* Entre estos fármacos se encuentran el sulfametoxazol, lidocaína, mepivacaína, celecoxib, carbamazepina, lamotrigina y ciprofloxacina, debido a su principio activo, vehículos o preservativo. Los ejemplos clínicos de este tipo de sensibilizaciones son el síndrome de Stevens-Johnson y la necrólisis epidérmica tóxica.

Inmunológicamente, la dermatitis por contacto es causada por la exposición repetida de la piel a haptenos, los cuales no son inmunogénicos ya que tienen muy bajo peso molecular (menos de 1 000 Da) y, por lo tanto, requieren unirse a proteínas de la epidermis para producir nuevos determinantes antigénicos.

La mayoría de los haptenos tiene residuos lipofílicos, que les permite atravesar la capa córnea de la epidermis y los residuos electrofílicos que establecen uniones covalentes con aminoácidos nucleofílicos de proteínas de la piel, como la cisteína, lisina, metionina, tirosina o histidina. En el caso de metales (p. ej., níquel, cromo o cobalto) se producen complejos con proteínas sin uniones covalentes, pero lo bastante estables para inducir hipersensibilidad. En cuanto a medicamentos o drogas, entre éstos la penicilina, algunos se pueden unir de modo covalente a proteínas propias, mientras que otros deben ser metabolizados o bioactivados a una forma químicamente reactiva capaz de unirse a proteínas. Varios se oxidan por la actividad de mieloperoxidasas de leucocitos, o se modifican por la actividad de enzimas destoxificantes como el citocromo P450 que también existe en los queratinocitos; por tal motivo a dichas moléculas se les llama pre o pro haptenos, respectivamente. El balance de estos procesos es afectado por factores genéticos y/o ambientales, lo que ocasiona el exceso de producción, la disminución o la eliminación de los haptenos inmunogenizados. Se induce así en principio una intensa respuesta inmunológica, debido a que se estimula la activación de células de inmunidad innata, como células dendríticas o macrófagos, que activan los linfocitos T de la inmunidad adaptativa de modo tan intenso que produce daño tisular o hipersensibilidad.

En el desarrollo de la *hipersensibilidad tardía cutánea* existen tres fases: la primera es la sensibilización, la segunda es la desencadenante y la tercera la de resolución (Figura 20-2).

En la fase de sensibilización o inducción ocurre el primer contacto de la piel con el hapteno y se induce la expansión de linfocitos T específicos en los ganglios linfáticos regionales, los cuales después migran a la piel. Los haptenos inducen la sensibilización por medio de sus propiedades proinflamatorias, lo que activa la respuesta inmunológica innata de la piel e induce el reclutamiento, activación, maduración y migración de

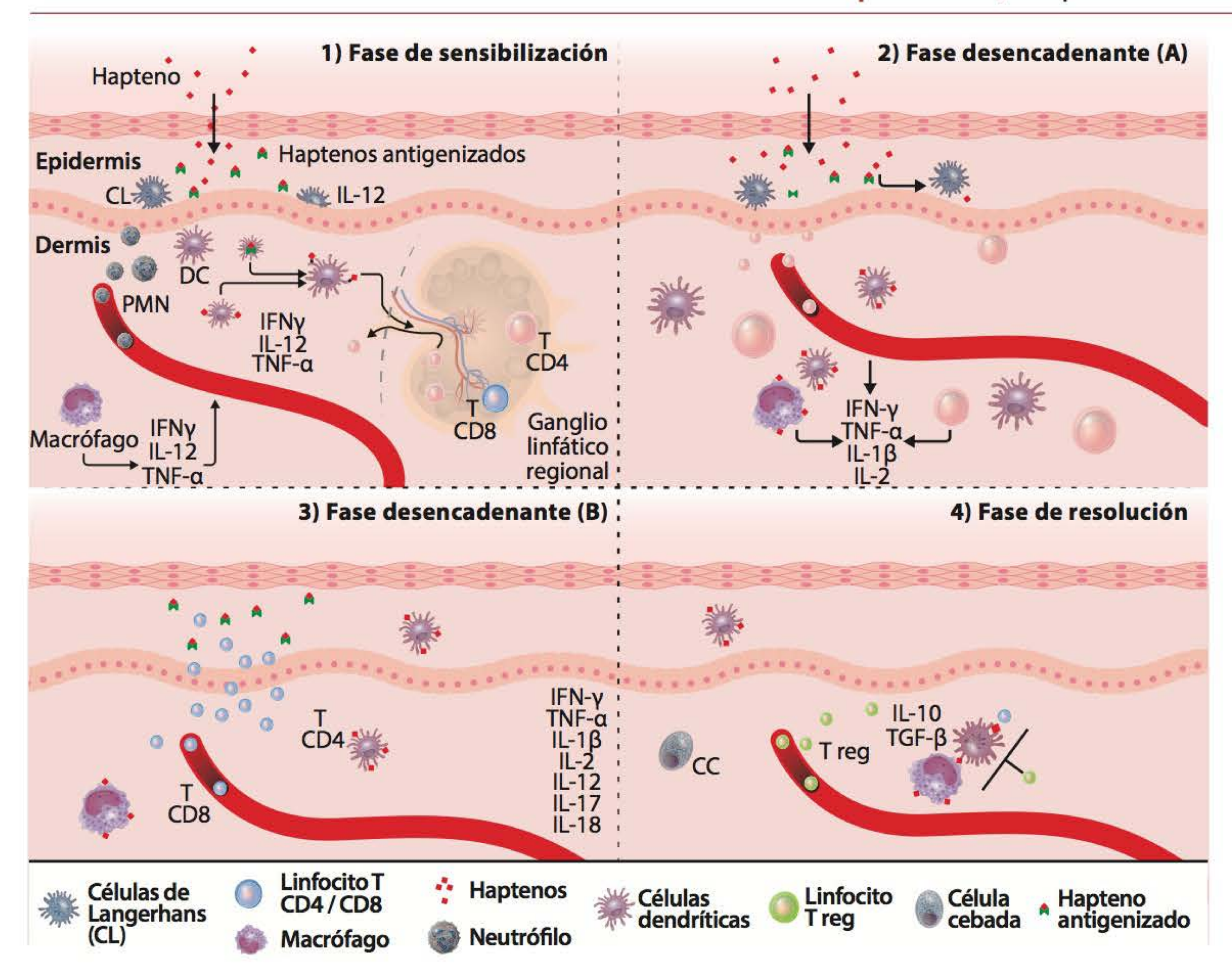


Figura 20-2. Fases de la hipersensibilidad tardía cutánea
El proceso de la hipersensibilidad tardía cutánea se desarrolla en tres fases. 1) Fase de sensibilización: los haptenos atraviesan la epidermis, ya sea por contacto o inoculación, y producen antigenización de las proteínas de la dermis. La antigenización consiste en la unión de los haptenos a las proteínas, con lo que se modifican y se generan nuevos epítopes antigénicos. Estos epítopes activan la respuesta inmunológica innata mediante la activación de las células involucradas en la respuesta inmunológica residentes en la piel, lo que determina la liberación de mediadores proinflamatorios que favorecen el reclutamiento de leucocitos, en especial neutrófilos. Las células dendríticas de la piel fagocitan el hapteno antigenizado, y lo presentan en su membrana en el contexto molecular del MHC I y II. Estas células dendríticas cargadas con los antígenos migran a los ganglios linfáticos regionales y presentan los haptenos antigenizados a los linfocitos Th CD4+ y Tc CD8+, lo que induce su activación y proliferación. Algunos linfocitos T (específicos) regresarán a la piel y otros permanecerán en circulación. 2) Fase desencadenante: se produce por la reexposición del hapteno que produjo la sensibilización. Los haptenos antigenizados son reconocidos por las células dendríticas y presentados por el MHC I y II a los linfocitos Th CD4+ y Tc CD8+ (específicos), que son activados y desencadenan una intensa respuesta inflamatoria (A). Los linfocitos Th CD4+ y T CD8+ secretan grandes cantidades de citocinas IFN-γ, TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-12, IL-17 e IL-18, con la consecuente activación de macrófagos. Se produce una intensa afluencia de linfocitos Th CD4+ y T CD8+ (B). 3). Fase de resolución: el proceso inflamatorio disminuye en forma progresiva hasta desaparecer, debido a la eliminación del hapteno y la activación de las células Treg, células cebadas y queratinocitos que liberan citocinas antiinflamatorias, como IL-10 y TGF-β.

las células dendríticas. Cuando los haptenos se unen a proteínas propias las modifican para crear nuevos epítopes antigénicos; estas proteínas modificadas son fagocitadas y procesadas por las células dendríticas de la piel, y presentadas en su membrana a través de proteínas de MHC I y II. Las células dendríticas cargadas con los antígenos migran de la piel a los ganglios linfáticos regionales, en donde presentan los haptenos antigenizados a linfocitos Th CD4+, y Tc CD8+, lo que induce su activación y proliferación. Los linfocitos T así activados migran de los ganglios linfáticos a la piel a través de la circulación sanguínea, y se mantienen en recirculación de la piel a los ganglios linfáticos. La fase de sensibilización dura de una a dos semanas sin que haya, en general, consecuencias clínicas; en ocasiones se puede producir una respuesta inflamatoria primaria inducida por el hapteno.

La fase desencadenante se produce de 1 a 3 días después de haberse reexpuesto al mismo hapteno que indujo la sensibilización. Los haptenos se difunden a través de la epidermis y son capturados y presentados en un contexto de MHC I y II por las células dendríticas a linfocitos Th CD4+ y Tc CD8+, lo que induce su activación en la dermis y epidermis. Esto provoca una intensa respuesta inflamatoria responsable de las lesiones cutáneas.

Durante la fase de resolución, el proceso inflamatorio disminuye en forma progresiva hasta ser eliminado mediante varios mecanismos, como la eliminación del hapteno y la activación de linfocitos Treg que producen citocinas antiinflamatorias, por ejemplo IL-10 y TGF-β. Células como los queratinocitos y las células cebadas también producen estas citocinas, las cuales inhiben la producción de IFN-γ, TNF-α, IL-1β, IL-6, lo mismo que la maduración de células dendríticas y la activación de los linfocitos T. La liberación de cantidades elevadas de IFN-γ induce la expresión de moléculas de MHC II por parte de los queratinocitos, lo que favorece la activación de linfocitos T. En ausencia de moléculas coestimuladoras (CD80 o CD86), el exceso de IFN-γ induce anergia o muerte de los linfocitos T activados lo mismo que supresión de la expresión de las selectinas E y P por las células endoteliales, con lo que la migración de células inflamatorias disminuye de manera acentuada.

Subtipos de hipersensibilidad tardía

El antígeno, su vía de entrada y la presencia o ausencia de haptenos producen diversas respuestas, por lo cual la hipersensibilidad tardía se subdivide según el tipo predominante de células estimuladas por un grupo de citocinas específicas que participan en diferentes formas de inflamación para producir las lesiones relacionadas con entidades clínicas específicas (Tabla 20-1).

La hipersensibilidad tipo IV-A en esencia es mediada por linfocitos Th1 CD4+ y macrófagos que secretan grandes cantidades de citocinas IFN-γ, TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-12, IL-17 e IL-18, lo que produce la activación de más macrófagos, como sucede en la respuesta a la tuberculina o en la sarcoidosis; además, también se activan en menor medida linfocitos Tc CD8+.

El subtipo de hipersensibilidad IV-B es producida por sensibilización y presentación antigénica local con activación de linfocitos Th2 y eosinófilos. Por intermedio de las citocinas IL-5, IL-4 e IL-13 se producen anticuerpos de clase IgE e IgG4, se desactivan macrófagos y se atraen y estimulan los mastocitos y eosinófilos. Con frecuencia la hipersensibilidad IV-B se produce en respuesta a ciertos medicamentos y parásitos, como en el exantema máculo-papular eosinofílico y en el asma alérgico, en el que además existe hipersensibilidad tipo I.

En la hipersensibilidad IV-C las principales células efectoras son los linfocitos Tc CD8+, las cuales migran y destruyen queratinocitos o hepatocitos por intermedio de perforinas, granzima B y apoptosis mediada por ligando de FAS y también con la participación de monocitos, eosinófilos y neutrófilos. Este

Tabla 20-1. Subtipos de hipersensibilidad tardía

Subtipo de hipersensibilidad tipo IV	Células mediadoras	Citocinas/moléculas secretadas	Efectos producidos	Ejemplos
Tipo IV-A	Linfocitos Th1 y macrófagos principalmente	IFN-γ, TNF-α, IL-1, IL-2, IL-12, IL-17, IL1-8	• Intensa activación de macrófagos • Activación de linfocitos T CD8+	• Respuesta a tuberculina • Sarcoidosis • Tuberculosis
Tipo IV-B	Linfocitos Th2 y eosinófilos	IL-5, IL-4, IL-13	• Producción de anticuerpos IgE e IgG4 • Desactivación de macrófagos • Atracción y estimulación de mastocitos y eosinófilos	• Reacciones alérgicas a ciertos medicamentos • Exantema máculo-papular eosinofílico • Reacción a ciertos parásitos • Asma alérgico con sensibilización y activación local
Tipo IV-C	Principalmente linfocitos T CD8+	Perforinas Granzima B	• Destrucción celular por granzimas y perforinas • Apoptosis mediada por Fas-FASL	• Reacciones alérgicas producidas por medicamentos • Síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis tóxica bulosa
Tipo IV-D	Linfocitos Th CD4+, Tc CD8+ y neutrófilos	IL-8 Factor estimulante de colonias granulocítico-macrofágico	• Inflamación estéril rica en neutrófilos	• Exantema pustular agudo generalizado • Enfermedad de Behçet

tipo de reacción es, en general, producida por medicamentos; tal es el caso de las enfermedades bulosas, como el síndrome de Stevens-Johnson y la necrólisis epidérmica tóxica. Ambas producen cuadros clínicos muy graves, pues los linfocitos Tc $CD8^+$ pueden actuar sobre todos los queratinocitos, dado que todos expresan MHC I, mientras que cuando las células efectoras son linfocitos Th $CD4^+$ las lesiones son localizadas, pues reconocen en exclusiva las moléculas MHC II que suelen expresarse de forma focal.

El subtipo de hipersensibilidad IV-D es producido por la participación de linfocitos Th $CD4^+$, Tc $CD8^+$ y neutrófilos, lo mismo que por IL-8 y el factor estimulante de colonia de granulocitos y macrófagos. Se produce inflamación estéril rica en neutrófilos, como sucede en el exantema pustular agudo generalizado y en la enfermedad de Behçet, en las que el CXCL8 y el factor estimulante de colonia granulocítico-macrofágico producido por los linfocitos T reclutan neutrófilos y evitan su apoptosis, respectivamente.

En conclusión, la respuesta inflamatoria de la hipersensibilidad tardía involucra muchas vías y mecanismos inmunológicos diversos en los que participan varios tipos celulares, citocinas, quimiocinas y receptores, tanto en respuestas locales como sistémicas con participantes de la inmunidad innata y adaptativa, en específico de la inmunidad mediada por células. El estudio de estos eventos ha sido muy útil para definir diversos eventos inmunológicos de gran importancia y también ha permitido estudiar diversos fármacos antinflamatorios e inmunomoduladores.

Resumen

La hipersensibilidad tardía o hipersensibilidad tipo IV, también conocida como DTH, se caracteriza por la producción de daño tisular fundamentalmente mediada por linfocitos T y macrófagos. En un inicio fue descrita y caracterizada por Robert Koch por la lesión necrótica producida por el bacilo de la tuberculosis en animales de experimentación o pacientes inmunizados con antígenos de *Micobacterium tuberculosis*. Más tarde, el concepto de DTH se extendió a la reacción cutánea producida por otros antígenos bacterianos, parasitarios y hongos, solos o asociados con adyuvantes, así como la producida por haptenos derivados de medicamentos, metales y otros compuestos, y la respuesta a aloinjertos.

La manifestación prototipo de la DTH es la reacción a la tuberculina. Esta prueba se utiliza para evaluar la exposición previa a antígenos específicos de *M. tuberculosis*. Si la respuesta es positiva, revela hipersensibilidad a los antígenos micobacterianos, que puede manifestarse como inflamación leve o producir necrosis. La respuesta cutánea se evalúa midiendo la induración cutánea producida. Cuando *M. tuberculosis* se establece en los tejidos, induce una respuesta intensa de inmunidad celular. Tal respuesta se organiza en una estructura que se denomina granuloma, y consiste en acúmulos de linfocitos y macrófagos que contienen las bacterias y también integran una forma de DTH.

Además de la DTH cutánea antes descrita, otros antígenos de diversa naturaleza son eficientes para producir hipersensibilidad; tal es el caso de la dermatitis por contacto. Ésta es una reacción cutánea inducida por la exposición a diversos agentes ambientales y, según el agente inductor, puede producir dermatitis por contacto irritante, fototóxica, alérgica o fotoalérgica. La dermatitis por contacto alérgica es una respuesta de hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T, que produce daño sobre todo en la epidermis. Clínicamente, la dermatitis por contacto se caracteriza por prurito, eccema, eritema, vesículas y ampollas durante su fase aguda, y por costras y piel liquenificada y gruesa durante la fase crónica.

El proceso de DTH cutánea se desarrolla en tres fases: 1) fase de sensibilización, 2) fase desencadenante y 3) fase de resolución. Las distintas características del antígeno, su vía de entrada y la presencia de haptenos generan diversas respuestas celulares que permiten subdividir la DTH en los subtipos IV-A (esencialmente mediada por linfocitos Th1 $CD4^+$ y macrófagos), IV-B, en la que existe activación de linfocitos Th2 y eosinófilos,, IV-C (cuyas células efectoras principales son los linfocitos Tc $CD8^+$, monocitos, eosinófilos y neutrófilos) y IV-D (producida por la participación de linfocitos Th $CD4^+$, Tc $CD8^+$ y neutrófilos).

Lecturas sugeridas

Pichler W. Delayed drug hipersensitivity reactions. *Annals of Internal Medicine*. 2003;139:683-93.

Posadas SJ, Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions –new concepts. *Clinical and Experimental Allergy*. 2007;37(7):989–99.

Rook GA, Hernandez-Pando R. The pathogenesis of tuberculosis. *Annual Review of Microbiology*. 1996;50:259-84.

Tan C-H, Rasool S, Johnston G. Contact dermatitis: allergic and irritant. *Clinics in Dermatology*. 2014;32:116-24.

Vukmanovic-Stejic M, Reed JR, Lacy KE, Rustin MA, Akbar AN. Mantoux Test as a model for a secondary immune response in humans. *Immunology Letters*. 2006;107:93-101.